Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau.
(Direktor: Professor Dr. C. Prausnitz.)

Wachstumshemmung von virulenten Tuberkelbazillen im Blute von Meerschweinchen nach Vorbehandlung mit B.C.G.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
bei der Hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Wilhelm Beckers,
Zahnarzt und Apotheker.

Breslau 1933

Breslauer Genossenschafts-Buchdruckerei E. G. m. b. H., Ursulinerstr. 1.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Breslau.

I. Berichterstatter: Privatdozent Dr. med. Gertrud Meißner.
II. " Professor Dr. Prausnitz.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern!

I. Einleitung.

Während die subkutane Infektion eines gesunden Meerschweinchens mit virulenten Tuberkelbazillen einen lokalen, tuberkulösen Geschwürprozeß, der zur Generalisierung führt, zur Folge hat, ruft bei tuberkulösen Meerschweinchen die subkutane Reinfektion nur einen zwar rascher entstehenden, aber bald wieder ausheilenden Lokalaffekt hervor. Die tuberkulöse Infektion mobilisiert also im lebenden Organismus Abwehrkräfte, die einen Schutz gegen erneute Infektion bilden. Dieser Grundversuch von Robert Koch (1891) war der erste Schritt auf dem Wege, die Immunitätsverhältnisse bei der Tuberkulose experimentell zu erforschen.

Aufbauend auf dieser Beobachtung lag es nahe, die Bekämpfung der Tuberkulose nach denselben Gesichtspunkten aufzunehmen, die schon bei anderen Infektionskrankheiten zu guten Erfolgen geführt hatten: Die Therapie bzw. Prophylaxe durch passive oder aktive Immunisierung. Bezüglich der ersteren waren die Aussichten von vornherein gering; bei dem chronischen Verlauf der Tuberkulose wären über lange Zeit gegebene Seruminjektionen notwendig, so daß möglicherweise eine Serum-Überempfindlichkeit die Folge sein könnte. In der Tat ergaben die mit Normalserum besonders resistenter Tiere sowie mit Serum immunisierter Tiere unternommenen Versuche durchweg negative, für die Praxis nicht verwendbare Resultate.

Also aktive Immunisierung? Man versuchte, analog der aktiven Immunisierung bei der Variola u. a., durch Vaccination einen Schutz gegen den Ausbruch der Tuberkulose zu erzielen und griff hierbei zu folgenden drei Arten der Immunisierung::

1. Impfung mit abgetöteten Tuberkelbazillen bzw. mit Extrakten aus diesen.
2. Impfung mit avirulenten Bazillen.
3. Impfung mit schwach virulenten Bazillen.

Die Immunisierungsversuche mit abgetöteten Tuberkelbazillen, von einer großen Anzahl bedeutender Bakteriologen wie R. Koch, Sternberg, Löwenstein, Calmette, Uhlenhuth u. a. angestellt, hatten vollkommen negative Ergebnisse. Bessau erzielte mit abgetöteten Tuberkelbazillen bei Meerschweinchen und durch besonders modifizierte (intralymphoglanduläre) Injektion auch bei Menschen Tuberkulinallergie. Über ähnliche Versuche mit gleichem Erfolg konnten Moro und Langer berichten. Dold, Seligmann und Gutfeld glaubten allerdings auf Grund eigener Versuche feststellen zu können, daß Langers Angaben auf einem Irrtum beruhten. Außerdem ist die Beantwortung der Frage, ob die Tuberkulinallergie einer Immunität gegen Tuberkulose gleichzusetzen sei, zumindesten noch zweifelhaft. Die von Moussu und Goupil angegebenen Erfolge stoßen auf den Widerspruch einer großen Anzahl von Autoren, weil ihre Versuche nur an Hunden gemacht wurden und daher keine Beweiskraft besitzen.

Auch die Immunisierung mit avirulenten, d. i. lebenden, aber nicht pathogenen Bazillen ergab bisher wenig ermutigende Resultate. Man verwandte die verschiedensten „Säurefesten" zu diesen Versuchen: Geflügeltuberkelbazillen (Mafucci, Babes, Daremberg, Courmont, Paterson u. a.), Kaltblütertuberkelbazillen (Friedmann, Möller, Rabinowitsch, Dieudonné u. a.), Perlsuchtbazillen (R. Koch, Baumgarten, Klemperer u. a.) und schließlich auch Timotheebazillen. Einige japanische Autoren berichteten über gute Erfolge mit Tuberkelbazillen vom Typus humanus, die ihre Virulenz durch Züchtung auf saponinhaltigen Nährböden eingebüßt haben sollen (Arima, Aoyama und Ohnawa). Löwenstein konnte bei der Nachprüfung dieser Methode einen Verlust der Pathogenität nicht erreichen. Im ganzen sind die Erfolge, die auch nur bei ganz besonderer Versuchsanordnung erzielt wurden, so gering, daß sie praktisch vorläufig nicht verwertet werden können.

Die Zahl der Versuche, die mit mehr oder weniger virulenten Tuberkelbazillen einen Impfschutz herstellen wollten, ist Legion. Sie wurden naturgemäß nur im Tierversuch durchgeführt. Ich erwähne als Standardmethoden die Bovovaccination nach v. Behring, die Schutzimpfung mit Tauruman (Koch, Schütz, Neufeld und Mießner), die Schilfsäckchenmethode nach Heymans, die „Tübinger Methode zur Immunisierung der Rinder" nach v. Baumgarten, die

Impfung mit dem Selterschen Vitaltuberkulin. In neuerer Zeit berichtete Uhlenhuth über Versuche mit einem in seiner Virulenz stark abgeschwächten bovinen Stamm (Kultur Tb. 18) an Rindern; einen vollwirksamen Schutz konnte er nicht erzielen. Ähnliche Methoden wandte Selter an, der Kälbern subkutan lebende, bovine Tuberkelbazillen injizierte und dadurch einen tuberkulösen Prozeß in den regionären Lymphdrüsen hervorrief; die Tiere wurden dann der natürlichen Infektion ausgesetzt. Selter glaubte, analog dem Kochschen Grundversuch, eine Resistenzerhöhung gegen den Ausbruch der Tuberkulose bei Reinfektion feststellen zu können, ist aber selbst der Ansicht, daß nur eine sehr lange, mindestens vier- bis fünfjährige Beobachtung (er selbst beobachtete nur in wenigen Fällen mehr als 10 Monate!) sichere Schlüsse zulasse. Römer und Hamburger modifizierten Kochs Meerschweinchenversuch unter genauer Berücksichtigung zeitlicher und quantitativer Momente. Sie kamen zu dem Resultat, daß eine Infektion mit möglichst kleinen Dosen virulenter Bazillen (zwecks Erzeugung eines möglichst chronisch verlaufenden Prozesses) und Reinfektion mit nicht zu massiven Dosen eine deutliche Resistenzerhöhung erkennen ließ; je älter der chronische Prozeß war, desto deutlicher der erzielte Schutz. Selter, R. Kraus u. a. bestätigten und vertieften diese Erkenntnisse, so daß heute „kaum noch ein Zweifel daran bestehen kann, daß die Tuberkulose eine Art von Immunität erzeugt". (R. Kraus.) Aber „nur ein aktiver, tuberkulöser Prozeß, bedingt durch lebende, virulente Tuberkelbazillen hat einen Schutz zur Folge, und mit der Ausheilung ist auch der Schutz erloschen". (R. Kraus.)

Großes Aufsehen erregten daher die Veröffentlichungen Calmettes, in denen er über erfolgreiche Schutzimpfungen mit vollkommen avirulenten Tuberkelbazillen vom Typus bovinus berichtete. Die Experimente mit diesem Bazillus Calmette-Guérin (B.C.G.) wurden an jungen Meerschweinchen, Kaninchen und Kälbern gemacht; auf Grund der Anschauung Calmettes von der intestinalen Genese der Lungentuberkulose wurde die perorale Einverleibung des B.C.G. gewählt; da die Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für Mikroorganismen bei Säuglingen (Disse, Römer) und saugenden Tieren (Ehrlich) nachgewiesen war, schien dieser Methode nichts im Wege zu stehen. In einem Teil der Versuche an Affen, Rindern und Ziegen wurde allerdings auch die parenterale Applikation des Impfstoffs erprobt. Der B.C.G. ist ein ehemals virulenter Stamm vom Typus bovinus,

der durch 13jährige Passage auf Glycerin-Kartoffel-Rindergallennährböden vollständig avirulent gemacht sein soll; die Avirulenz soll „erblich fixiert", d. h. auch durch Tierpassagen und durch Weiterzüchtung auf gewöhnlichen Glycerin-Kartoffeln nicht verloren gehen. Calmettes Angaben, die naturgemäß einen mächtigen Widerhall in der ganzen wissenschaftlichen Welt fanden, wurden in einer großen Zahl von Veröffentlichungen einer kritischen Nachprüfung unterzogen. Einige der Hauptfragen, um die auch heute noch der wissenschaftliche Streit weitergeht, sind: Ist der B.C.G. avirulent oder virulent? Ist ein Schutz mit B.C.G. zu erzielen oder nicht? Ist der B.C.G. in seinen Eigenschaften wirklich ein virus fixe oder kann er in die Virulenz zurückschlagen? Keine der Angaben Calmettes blieb unwidersprochen; immerhin sind die Untersuchungen einer Anzahl der Probleme soweit gediehen, daß man teilweise von einer Klärung sprechen kann.

Zunächst wurde die Frage der Avirulenz des B.C.G. nachgeprüft. Die Behauptung, mit avirulenten Bazillen einen Schutz erzielen zu können, schien mit der bisher verfochtenen, experimentell gut fundierten Lehre in krassem Widerspruch zu stehen. R. Kraus, Gerlach, Suarez, Korschun, Selter und Blumenberg, Tzechnovitzer, Lange und Lydtin u. a. kamen zu dem Ergebnis, daß der Stamm B.C.G. zwar non pathogen und non nosogen, aber nicht avirulent und non tuberculigen sei. Calmette selbst ist in dieser Frage auch von seiner ursprünglichen Auffassung abgegangen. Die weitaus meisten Autoren sehen heute im B.C.G. einen Stamm von geringer, aber ganz bestimmter Virulenz. Einen völlig abweichenden Standpunkt haben Chiari, Nobel und Solé eingenommen, die den B.C.G. als pathogen und nosogen bezeichneten, doch wurden ihre Argumente durch Calmette, Lange und Lydtin entkräftet. Petroff gelang es, aus dem B.C.G.-Stamm zwei Varianten (R- und S-Kolonien) zu züchten, von denen die S-Variation für Meerschweinchen pathogen war. R. Kraus und Tzechnovitzer konnten zwar auch eine Dissoziation des B.C.G. erzielen, aber in keinem Falle pathogene Kolonien abspalten. Ja sogar die Pathogenität der Original S-Kulturen von Petroff konnte von Gerlach nicht bestätigt werden. Auf dem Wege der Hodenpassage erzielte Korschun eine Virulenzsteigerung des B.C.G. Hutyra und Schütz sahen bei Meerschweinchen das Auftreten einer progredienten Tuberkulose nach Impfung mit B.C.G., wenn die normale Resistenz dieser Tiere durch sehr hohe Dosen gewaltsam niedergebrochen war. Bei

Kälbern und Rindern konnten sie bei gleicher Versuchsanordnung keine Schädigung durch B.C.G. feststellen. Watson, Mc. Intosh und Konst stellten Stammesunterschiede beim B.C.G. bezüglich seines Virulenzgrades fest; auch die Versuchstiere (Meerschweinchen) wiesen zu verschiedenen Jahreszeiten auf- und absteigende Resistenz auf, die von den Verfassern auf Unterschiede in der Fütterung zurückgeführt wurden. Gemeinsam mit R. Kraus berichteten Ariztia, Orellana und Sotero del Rio über den Tod einiger mit B.C.G. geimpfter Kinder nach Auftreten einer interkurrenten Infektion mit anderen Bakterien (Streptokokken usw.); bei der Autopsie festgestellte tuberkulöse Veränderungen schienen den Verdacht zu rechtfertigen, daß es sich in diesen Fällen um eine Virulenzsteigerung des B.C.G. handeln könnte. Züchtungen aus den Organen dieser Kinder ergaben einen für Meerschweinchen und Kaninchen pathogenen Tuberkelbazillenstamm. Diese Berichte fanden eine Stütze in den Untersuchungen Hormaeches; er fand bei mit B.C.G. geimpften Meerschweinchen, die interkurrent an einer Streptokokkeninfektion eingegangen waren, eine generalisierte Tuberkulose; aus den Organen dieser Tiere ließen sich ebenfalls Stämme züchten, die für Meerschweinchen und Kaninchen pathogen waren. Auch Uhlenhuth und Seiffert kamen auf Grund ihrer Versuche an Rindern, Kaninchen und Meerschweinchen zu Zweifeln an der Unveränderlichkeit der Virulenz des B.C.G.

Weiter wurde untersucht, ob es möglich sei, mit dem B.C.G. einen ausreichenden Schutz gegen die Tuberkulose zu erzielen. Daß überhaupt ein Schutz durch B.C.G. (den gering virulenten, lebenden, tuberkuligenen Stamm) zu erreichen ist, erscheint nach dem oben erwähnten Gesetz von R. Kraus wahrscheinlich. Der Nachdruck der Fragestellung liegt vielmehr auf dem Wort „ausreichend". Ascoli, Tzechnovitzer, Selter, Imamura und Takahashi, Sataku stellten die immunisierende Wirkung des B.C.G. im Tierexperiment (Ziegen, Kälber, Kaninchen, Rinder, Meerschweinchen) fest. Befriedigende Resultate aus der Praxis der Veterinärmedizin berichtete Ascoli aus Mailand (über 1000 Kälber wurden geimpft und über 1 Jahr beobachtet); ferner Guérin, Richart und Boissière (bei 6jähriger Beobachtung von 110 Kälbern). Korschun, Lange und Lydtin (ersterer nur bei intravenöser Injektion des B.C.G.) kamen bei ihren Versuchen zu zweifelhaften Ergebnissen. Berger und Fränkel stellten bei Kälbern zwar keinen vollkommenen, wohl aber einen recht weitgehenden Schutz

fest. Zusammenfassend referierte Kraus über diese Versuche und stellte fest, daß der Stamm B.C.G. eine Infektionsimmunität, ähnlich der von Koch bei tuberkulösen Individuen beobachteten, wenn auch leichteren Grades, hervorruft; diese Eigenschaft besitzt er aber nur deshalb, weil ihm eine gewisse Virulenz zukommt. Das Gutachten der Völkerbundskonferenz 1928 in Paris präzisierte den Stand dieser Frage dahin, daß die B.C.G.-Impfung für Tiere unschädlich sei, die subkutane Applikation beim Rinde einen ausgesprochenen Schutz darstelle; bei Menschen sei keine progrediente Tuberkulose infolge der Impfung festzustellen, dagegen ein gewisser Grad von Immunität zu erzielen. Jedoch seien längere Beobachtungszeit und Versuche auf einheitlicher Grundlage notwendig, bevor ein abschließendes Urteil abgegeben werden könne.

Auch die Immunisierungsversuche der letzten Jahre, sei es am Tier mit künstlicher oder natürlicher Reinfektion, oder am Menschen, haben mit den verschiedensten Versuchsanordnungen keine klare Entscheidung über die Wirksamkeit oder Nichtwirksamkeit der B.C.G.-Impfung erbringen können. Man muß dabei unterscheiden zwischen der peroralen und der parenteralen Zuführung des B.C.G.

Mit der peroralen Applikation erzielten Fränkel und Platz bei Meerschweinchen nach der Immunoidmethode von Wassermann und Neuberg (Verabreichung einer Mischung von Natriumbenzoat und B.C.G.) eine erhöhte Resistenz gegen natürliche und künstliche ($^1/_{100\,000}$ mg Tuberkelbazillen subkutan) Reinfektion; diese drückte sich in einem langsameren Verlauf der auftretenden Tuberkulose gegenüber Kontrolltieren aus. Eine z. T. ganz beträchtliche Verlängerung der Lebensdauer von tuberkulös reinfizierten Meerschweinchen nach peroraler Vorbehandlung mit B.C.G. konnte Silberschmidt feststellen; er sah aber bei parenteraler Applikation des Impfstoffs günstigere Ergebnisse. Auch Jensen und Örskow und Jensen erzeugten durch Fütterung mit B.C.G. bei Meerschweinchen eine relative Resistenzerhöhung gegen nachfolgende subkutane Superinfektion, die sich im Auftreten des Kochschen Phänomens, verzögerter Generalisierung der Tuberkulose, verlängerter Lebenszeit und tuberkulin-positiver Reaktion anzeigte. Die perorale Impfung von Neugeborenen nach dem Verfahren von Calmette Guérin wird u. a. von Weill-Hallé, Tzechnovitzer, Ascoli und Pepen, Assis und Schloßmann als ungefährlich und nutzbringend empfohlen. In vielen Ländern wird schon seit Jahren die

Fütterungsimpfung von Säuglingen mit B.C.G. praktisch durchgeführt; sie ist in ihren Ergebnissen, mangels korrekter Statistiken und auch wegen der noch zu kurzen Beobachtungszeit, umstritten. Die Unschädlichkeit wird kaum noch bezweifelt, dagegen ist die Schutzwirkung noch nicht geklärt. Im Gegensatz zu diesen zustimmenden Berichten lehnen Moro, Nobel, B. Lange und Wethmar die perorale Immunisierung als nutzlos ab. Togunowa und Larionowa konnten bei neugeborenen Meerschweinchen keine ausgesprochene Immunität gegen nachfolgende subkutane Reinfektion mit virulenten Tuberkelbazillen erzielen. Rupilius bezeichnete die Fütterungsimpfung auf Grund seiner Meerschweinchenversuche als „ungenau und unverläßlich".

Bei der parenteralen Immunisierung dagegen sind die Impferfolge im allgemeinen bessere. Die von den einzelnen Autoren bei dieser Methode verwandten B.C.G.-Dosen schwankten in ihrer Größe ganz außerordentlich: von mehreren Milligramm bis hinab zu $^1/_{100}$ mg in einmaliger oder fraktionierter Darreichung. Die Impfung wurde subkutan, intraperitoneal, intravenös oder auch intrapleural vorgenommen. Die Mißerfolge einiger Autoren werden, z. T. von ihnen selbst, mit zu starker Reinfektionsdosis (Nobel) oder mit zu rascher Folge von Impfung und Reinfektion (Jötten und Pfannenstiel) oder zu hochgradiger Empfänglichkeit der Versuchstiere (Meerschweinchen) für die künstliche Superinfektion (Remlinger und Bailly) erklärt. Uhlenhuth, Müller und Hillenbrandt äußern Zweifel an der wirksamen Immunisierung durch B.C.G. auf Grund ihrer an 18 vorbehandelten Rindern während 10 Monaten gemachten Beobachtungen; die Tiere wurden mit 6 Kontrollen und 3 tuberkulösen Tieren im Seuchenstall der Ansteckung ausgesetzt. Sie versprechen sich aus den sehr zweifelhaften Ergebnissen keinen wesentlichen Nutzen der B.C.G.-Behandlung für die Veterinärpraxis. Küster und Elkes, King und Park, Wischnewsky, Rupilius, Orskow und Jensen, Kritschewsky, Togunowa, Archangelsky und Baidakowa erzielten durch intraperitoneale, subkutane und intrapleurale Impfung bei Meerschweinchen eine Resistenzerhöhung, aber keinen nachhaltigen Schutz. Die Resistenzerhöhung zeigte sich bei der künstlichen Reinfektion in der langsameren Generalisierung, dem chronischen Verlauf und in starken, produktiven Veränderungen des Infekts. Vielleicht liegt auch hier die Schuld an der mangelnden Eignung des für künstliche Reinfektion stark empfänglichen

Testtieres. Zu dieser Ansicht bekennen sich auch Lange und Neufeld. Die durch subkutane Impfung erzielte Immunität manifestierte sich nach ihrem Bericht am deutlichsten bei von Natur aus schon resistenteren Tieren (Schafen, Rindern), während sich die Schutzwirkung beim hochempfänglichen Meerschweinchen nur in einer Verzögerung des Verlaufs der Reinfektion ausdrückte. Lange und Lydtin erzeugten bei Meerschweinchen durch parenterale Impfung mit verschieden großen Dosen B.C.G. eine quantitativ und zeitlich begrenzte Immunität. Beim Vergleich mit der durch die Kultur Kopenhagen (einen abgeschwächten, aber pathogenen bovinen Stamm) erzielten Schutzwirkung kamen sie zu dem Ergebnis, daß „der Immunisierungseffekt parallel zur Stärke der durch die Impfung gesetzten Infektion geht". Guten Schutz beobachteten Gerlach und Kraus bei Rhesusaffen nach subkutaner Verimpfung von 30—50 mg B.C.G.; sie schließen daraus, daß nicht nur progrediente, durch virulente Tuberkelbazillen hervorgerufene Prozesse eine Infektionsimmunität setzen, sondern auch lokale benigne Herde, die durch abgeschwächte, tuberkuligene, aber apathogene Bazillen erzeugt werden. Durch fraktionierte, subkutane Impfung mit insgesamt 4,5 mg B.C.G. erzielten Tiedemann und Schnieder einen deutlichen Schutz bei Meerschweinchen gegen die nach 60 Tagen erfolgende Reinfektion mit 0,00005 mg virulenter Tuberkelbazillen; bei Erhöhung der Infektionsdosis bis auf 0,001 mg war immer noch eine Resistenzsteigerung zu beobachten. Auch Petroff und Steenken vermerkten „einen gewissen Schutz" von Meerschweinchen durch intraperitoneale und subkutane Vaccination mit B.C.G. Auf Grund seiner an Affen, Kaninchen und Meerschweinchen durchgeführten Laboratoriumsversuche kam Gerlach zu einer bejahenden Antwort der Immunitätsfrage. Er wandte bei Kaninchen eine fraktionierte, subkutan injizierte Gesamtdosis von 20 mg B.C.G. an und erreichte Immunität gegen konjunktivale Superinfektion mit dem virulenten Rinderstamm Vallée. Auch geimpfte Kälber und Rinder waren gegenüber diesem Virus refraktär. Die Entwicklung der vorbehandelten Tiere in tuberkulösem Milieu war besser als die von Kontrolltieren. Im wesentlichen dieselben Wahrnehmungen machten Haring, Traum, Hayes und Henry bei 200 vaccinierten Kälbern und Wischnewsky ebenfalls bei Kälbern (Beobachtungsdauer 3 Jahre!). Weill-Hallé und einige norwegische Forscher impften Kinder, die einige Monate alt waren, subkutan mit B.C.G. und erzielten guten Schutz bei völliger Unschädlichkeit der Impfung. Zum Schluß seien

noch die sehr interessanten und schönen Erfolge erwähnt, über die Heimbeck 1931 aus Oslo berichtete. Er erzielte 1927, 1928 und 1929 bei insgesamt 170 Krankenpflegeschülerinnen, die vorher pirquet-negativ waren, durch subkutane Applikation von B.C.G. nach 1—2 Wochen eine Tuberkulinallergie. Nach 3—5 jähriger Beobachtungsdauer ergab sich, daß von 34 Nichtgeimpften (diese hatten die Impfung abgelehnt) 42,1% sich mit mehr oder weniger schwerer Tuberkulose infiziert hatten, während bei nur 2,2% der Vorbehandelten leichtere Pleuritiden vorkamen.

Zusammenfassend kann man über die Impfung mit B.C.G. sagen:

Die Unschädlichkeit im Tierversuch und bei der Behandlung des Menschen ist für die Mehrzahl der Autoren kaum noch zweifelhaft; die sehr gewichtigen Berichte einer Anzahl von angesehenen Bakteriologen über schädliche Wirkungen der B.C.G.-Impfung lassen aber ein endgültiges Urteil vorläufig noch nicht zu.

Auch die Frage des erzielten Schutzes sowohl im Laboratoriums-Tierversuch als auch bei natürlichen Ansteckungsbedingungen in der Veterinär- und Humanmedizin ist, trotz einer großen Anzahl günstiger Berichte, noch nicht eindeutig zu beantworten.

*

Auf dem Wege der Bekämpfung der Tuberkulose würde man ein gutes Stück weiterkommen, wenn die Frage nach dem Mechanismus der Immunität, und dabei speziell der durch den B.C.G. erzeugten, geklärt wäre. Von verschiedenen Autoren wurden im Blut tuberkulöser Individuen bakterizide bzw. wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber virulenten Tuberkelbazillen beobachtet. So kommt G. Meißner auf Grund eingehender Untersuchungen des Blutes von Meerschweinchen und Kaninchen zu der Feststellung, daß das Gesamtblut tuberkulöser Tiere stärkere, wachstumshemmende Wirkungen für Tuberkelbazillen hat, als das Blut normaler Tiere. Über ähnliche Beobachtungen berichteten Courmont und Gardère; sie fanden im Serum Tuberkulöser sehr verschieden hohe bakterizide Kräfte und setzten diese in beachtenswerte Parallelen zum Verlauf der Erkrankung: War die bakterizide Kraft hoch, so konnte eine gute Prognose für günstigen Verlauf und sogar für die Heilung gestellt werden; bei Kranken mit niedrigem bakterizidem Index beobachteten sie bis zu 50% Letalität. Bei normalerweise für Tuberkulose hochempfänglichen Tieren, wie Meerschweinchen, ist die bakterizide Kraft des Blutes gesunder Tiere gering. Auch

Bonanno stellte durch Mischung von Blut und Tuberkelbazillenemulsion und nachfolgendes Ausstreichen und Bebrüten auf Petroff-Nährböden bakterizide Eigenschaften des Blutes fest. Hedvall findet zwar auch im Serum und Plasma bakterizide Agentien; aber im Gegensatz zu Meißner und Courmont und Gardère mißt er ihnen keine Bedeutung für die Tuberkulose-Immunität zu und macht ernste Zweifel an der Erklärung der Immunität durch Zunahme der bakterientötenden Fähigkeit der Körperflüssigkeiten und Zellen geltend. Er neigt mehr der Theorie Selters zu, der glaubt, daß die Zellen des Organismus eine physikalisch-chemische Veränderung erleiden, wodurch ihre Empfindlichkeit gegen Tuberkelbazillen herabgesetzt wird und sie weniger leicht zur Tuberkelbildung gereizt werden; die Tuberkelbazillen sollen im Falle einer Infektion als Saprophyten im Organismus liegen bleiben. Kirchner untersuchte in ähnlicher Weise 32 Tuberkulose- und 20 Nichttuberkulosesera; Unterschiede im Wachstum der Tuberkelbazillen führte er auf besondere, physikalisch-chemische Eigenschaften der Substrate, besonders auf Mangel an Nährstoffen, zurück, aber nicht auf spezifische, bakterizide Substanzen.

Während also über die bakteriziden Eigenschaften des Blutes oder Serums von tuberkulösen Tieren und Menschen Untersuchungen vorliegen, fehlen solche über die Frage: Weist das Blut von Individuen, die mit B.C.G. vorbehandelt sind, wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber virulenten Tuberkelbazillen auf, ähnlich wie sie im Blut Tuberkulöser von verschiedenen Autoren beobachtet wurden? Ich habe es daher auf Veranlassung von Fräulein Privatdozent Dr. Gertrud Meißner unternommen, diese Frage experimentell zu prüfen.

II. Eigene Versuche.

1. Versuchstechnik:

Die Versuche wurden nach der von G. Meißner ausgearbeiteten, quantitativen Methode zur Feststellung der Wachstumshemmung im Blut gegenüber Tuberkelbazillen durchgeführt. Die Technik gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen:

Von einer 3—4 Wochen alten Tuberkelbazillenkultur auf Glycerin-Kartoffeln (Typus humanus Stamm 638) wurde eine kleine Menge auf der analytischen Wage abgewogen und in einem sterilen Achatmörser mit physiologischer Kochsalzlösung ganz fein zerrieben, so daß eine Emulsion, die 10 mg

in 2 ccm enthielt, entstand. Zur Entfernung der gröberen Partikel wurde die Aufschwemmung 3 Minuten in der Wasserzentrifuge mit etwa 2500 Umdrehungen zentrifugiert; man erhielt über dem Bodensatz eine trübe Flüssigkeit, die abgehebert und nochmals im Verhältnis 1 : 100 verdünnt wurde. Diese Aufschwemmung, die eine ganz geringe Opaleszenz aufwies, wurde verwandt. Zur Untersuchung wurde Gesamtblut von teils vorbehandelten, teils unbehandelten Meerschweinchen benutzt. Das Blut wurde den Tieren mit paraffinierter (in flüssigem Paraffin bei 130—140° sterilisierter) Spritze durch Herzpunktion entnommen und in eisgekühlte, paraffinierte Reagensröhrchen gebracht, um eine Gerinnung zu verhindern. — Zum Paraffinieren der Glassachen wurde hartes Paraffin mit einem Schmelzpunkt von 56—58° benutzt! — Mit Gummihütchen und paraffinierten Glaskapillaren, die mittels Wrightscher Eichkapillaren und Quecksilber geeicht waren, wurden je 10 cmm Blut und 2,5 cmm Bazillenaufschwemmung auf paraffinierte Objektträger gebracht, durch mehrmaliges Aufsaugen in Kapillaren und Ausblasen innig gemischt, endlich unter Vermeidung von Luftblasen in eine Kapillare aufgezogen und diese dann zugeschmolzen. Die Glaskapillaren wurden möglichst gleichmäßig gezogen, so daß bei einer lichten Weite von zirka 0,6 mm Durchmesser eine Blutfadenlänge von höchstens 4 cm erzielt wurde. Nach 24 Stunden wurden die Kapillaren geöffnet, die geronnenen Blutfäden (von jedem Blut wurden stets 3 Fäden angelegt) steril auf in der Flamme sterilisierte Objektträger ausgeblasen, die in sterilen feuchten Kammern untergebracht waren, und mit sterilen Glasnadeln sorgfältig ausgebreitet. Die feuchten Kammern bestanden aus Petrischalen, die am Boden mit feuchtem Zellstoff und einem daraufliegenden Z-förmigen gebogenen, dünnen Glasrohr beschickt waren; in den Deckel wurde zum Aufsaugen des sonst herabtropfenden Kondenswassers passend geschnittenes, feuchtes Fließpapier gegeben. Die Schalen wurden dann zweimal 2 Stunden im strömenden Wasserdampf sterilisiert; um etwa noch vorhandene Schimmelpilzsporen am Auskeimen zu hindern, wurde schließlich noch Zellstoff und Fließpapier mit einigen Kubikzentimetern 1% iger Sublimatlösung getränkt. Die Blutfäden wurden in den feuchten Kammern 9 Tage bei 37° bebrütet; darauf wurden die Fäden mit den Objektträgern in eine 0,15% ige Lösung von Kalium causticum fusum in destilliertem Wasser gebracht, die das aus dem Hämoglobin unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs entstandene Methämoglobin herauslöste. Es bereitete einige Schwierigkeit, den richtigen Moment zu treffen, an dem

die Aufhellung genügend war, die Lauge aber auch die Fäden noch nicht zu zerstören begann; dies wurde vermieden, indem immer nur eine kleine Gruppe (5—6 Fäden) zugleich aufgehellt wurde, um nach Beendigung der Aufhellung sofort auf neue Objektträger aufgezogen zu werden. Die Präparate wurden dann Luft-getrocknet und ohne besondere Fixation nach Ziehl-Neelsen gefärbt. In einigen Ausnahmefällen zerrissen die Fäden, sei es infolge bakterieller Verunreinigung, sei es durch die Wirkung der Lauge.

Zur Beurteilung des Wachstums der Tuberkelbazillen wurden die Präparate mit Ölimmersion unter Zuhilfenahme des Kreuztisches systematisch durchgesehen und die Kolonien, geordnet nach ihrer Bazillenzahl (in Gruppen von 1—4, 5—10, 11—20 und über 20 Bazillen) ausgezählt. War die Einsaat sehr groß, so wurden 300 Kolonien gezählt; im allgemeinen wurden in jedem Faden immer 100 Kolonien ausgezählt; bei sehr kleiner Einsaat mußte der ganze Faden durchgezählt werden. Von den 3 Fäden jeden Präparats wurden immer zwei mikroskopisch ausgewertet, von denen dann das arithmetische Mittel als Ergebnis genommen wurde. Aus dem Unterschied in der Größe der Kolonien im Kontrollblut und im B.C.G.-Blut ergab sich die Wachstumshemmung. Die mikroskopischen Durchsicht von unbebrüteten Einsaat-Kontrollfäden ergab, daß die Bazillen bis auf einen geringen Bruchteil einzeln lagen; nur bis zu 3% waren sie in kleinen Häufchen von über 4 Bazillen zusammengeballt. Am günstigsten ist es, wenn höchstens in jedem Gesichtsfeld, besser noch in jedem 2. oder 3., ein Bazillus oder ein Bazillenhaufen zu finden ist. Wenn sich auch bei dieser Technik eine zahlenmäßig ganz gleiche Einsaat bei verschiedenen Versuchen nicht erzielen ließ, so war sie doch für die Auswertung der Versuche in bezug auf Wachstumshemmung vollständig ausreichend. In allen Versuchen wurde außer den B.C.G.-Tieren das Blut einer gleich großen Anzahl von Kontrollmeerschweinchen geprüft; fast jeder Versuch wurde in der gleichen Ausführung nach 3—4 Tagen wiederholt.

2. Versuche mit Meerschweinchenblut.

Die erste Versuchsserie galt der Frage, ob das Blut von mit B.C.G. vorbehandelten Meerschweinchen stärker wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber virulenten Tuberkelbazillen aufweist, als das Blut von Normaltieren. Dazu wurde das Blut von 14 Meerschweinchen in zwei Doppelversuchen geprüft. Die Tiere waren teils mit B.C.G.-Stamm-Kulturen auf Hämatin-Eiernährböden, teils mit Kulturen, die aus B.C.G.-

Meerschweinchen herausgezüchtet waren, 6—7 Monate vor dem Versuch geimpft worden, und zwar erhielten sie etwa 20 mg Kultur intraperitoneal injiziert. Nach Beendigung des Versuchs wurden die Tiere getötet, seziert und auf tuberkulöse Veränderungen hin untersucht. Bei allen Tieren konnte eine mehr oder weniger stark ausgebreitete Tuberkulose von Netz, Leber und bei männlichen Tieren auch von Nebenhoden nachgewiesen werden. In jedem Versuch wurde die gleiche Zahl unbehandelter Kontrolltiere geprüft. Die Versuchsergebnisse finden sich in Tabelle I.

Bei den Versuchen A 1, A 2 und B 1 sind die einzelnen Bazillen im Blute der B.C.G.-Tiere im Durchschnitt zu kleineren Kolonien ausgewachsen als im Blute der unbehandelten Normaltiere. Wenn wir die Kolonien betrachten, die aus 1—4 Bazillen bestehen, so ergeben sich bei den vorbehandelten Tieren Durchschnittswerte von 89,7, 89,7 und 90,3% gegenüber 80,1, 76,8 und 83,9% bei den Kontrolltieren. Wenn auch das Wachstum der Tuberkelbazillen im Blut eines B.C.G.-Tieres im Einzelfalle das eines Kontrolltierpräparats gelegentlich einmal erreicht bzw. sogar übertrifft, so dürfte dies, vorausgesetzt, daß keine bakterielle Verunreinigung vorgelegen hat, wohl mit den von G. Meißner festgestellten, zeitlich und individuell gelegentlich auftretenden Schwankungen der Blutbakterizidie zusammenhängen, zumal in Wiederholungsversuchen immer normale Werte für diese Tiere auftraten. Bei Errechnung der Durchschnittswerte in den einzelnen Versuchen ergeben sich jedoch, selbst trotz einzelner aus dem Rahmen fallender Werte, so deutliche Unterschiede im Wachstum der Tuberkelbazillen im Blut normaler und der mit B.C.G. geimpften Tiere, daß wir annehmen müssen, die Vorbehandlung mit B.C.G. beeinflusse das Blut von Meerschweinchen im Sinne einer stärkeren Wachstumshemmung gegenüber virulenten humanen Tuberkelbazillen.

Bei der kritischen Durchsicht von Versuch B 2 fällt die nur sehr kleine Differenz der Wachstumsergebnisse im B.C.G.-Tierblut und Kontrolltierblut auf. In diesem Falle war die Tuberkelbazilleneinsaat durch ein Versehen ganz außerordentlich groß ausgefallen, so daß jedes Gesichtsfeld im Mikroskop etwa 20—30 Kolonien aufwies. Wir nehmen an, daß hier infolge allgemein erschwerter Wachstumsbedingungen für die Tuberkelbazillen die hemmenden Eigenschaften des Bluts der B.C.G.-Tiere nicht so deutlich in Erscheinung treten konnten; wir führen jedoch diesen Versuch absichtlich an, um die Notwendigkeit der niedrigen Einsaatmenge nochmals zu betonen.

Tabelle

Versuche mit 14 B. C. G.-Meerschweinchen und 14 Kontrolltieren von B. C. G.- und

Zahl der Bazillen pro Kolonie	Einsaat-Kontrolle	B. C. G.-Meerschweinchen									
		Versuch A_1 angesetzt mit Tuberkelbazillen									
		art.[1])	ven.[2])	art.	art.	art.	ven.	art	art.	art.	
Meerschweinchen Nr.		106	107	110	111	192	193	194	189	190	Durchschnitt
1—4	97	89 88	86 89	87 89	89 91	86 85	92 94	91 89	92 94	47 66	
5—10	3	10 9	13 11	12 11	11 8	13 15	8 5	9 9	8 6	4 6	
11—20	—	1 3	1 —	1 —	— 1	1 —	— 1	— 2	— —	— —	
über 20	—	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
bis 4	97%	88,5%	87,5%	88%	90%	85,5%	93%	90%	93%	92%	89,7%
über 4	3%	11,5%	12,5%	12%	10%	14,5%	7%	10%	7%	8%	10,3%
		Wiederholungsversuch A_2									
		art.	ven.	art.	art.	art.	art.	art.	art.	art.	
bis 4	97,5%	94,5%	88%	90%	92%	88%	88,5%	90%	90,5%	86%	89,7%
über 4	2,5%	5,5%	12%	10%	8%	12%	11,5%	10%	9.5%	14%	10,3%

		Versuch B_1						
		art.	art.	art.	art.	art.		
Meerschweinchen Nr.		121	122	123	124	114		Durchschnitt
1— 4	97	88 91	90 93	87 89	91 89	92 93		
5—10	3	12 9	10 7	13 10	9 10	8 7		
11—20	—	— —	— —	— 1	— 1	— —		
über 20	—	— —	— —	— —	— —	— —		
bis 4	97%	89,5%	91,5%	88%	90%	92,5%		90,3%
über 4	3%	10,5%	8,5%	12%	10%	7,5%		9,7%
		Wiederholungsversuch B_2						
		art.	art.	art.	art.	ven.		
bis 4	96%	92,5%	93%	95%	93%	96%		93,9%
über 4	4%	7,5%	7%	5%	7%	4%		6,1%

[1]) Durch die Herzpunktion wurde arterilles Blut erhalten.
[2]) " " " " venöses " "

I.

zur Ermittlung der Unterschiede der Wachstumshemmung im Blut Normal-Tieren.

Kontrollmeerschweinchen

Typ humanus Stamm 638, 24 Tage alt.

art.	ven.	ven.	art.	art.	ven.	ven.	art.	art.	
229	235	232	236	238	234	241	750	233	Durchschnitt
46	49 42	73 87	56 64	81 76	76 73	82 76	56	77 71	
13	12 11	16 12	19 16	19 22	23 27	18 24	9	14 16	
—	— —	— 1	— —	— 2	1 —	— —	—	— —	
—	— —	— —	— —	— —	— —	— —	—	— —	
78%	80%	85%	77%	78,5%	74,5%	79%	86%	83%	80,1%
22%	20%	15%	23%	21,5%	25,5%	21%	14%	17%	19,9%

mit Stamm 638, 21 Tage alt.

art.	ven.	ven.	art.	art.	art.	art.	art.	art.	
76%	80%	71%	74%	73,5%	79,5%	80%	74%	83%	76,8%
24%	20%	29%	26%	26,5%	20,5%	20%	26%	17%	23,2%

mit Stamm 638, 24 Tage alt.

art.	art.	ven.	ven.			Durchschnitt
458	460	467	487	486		
78	83 71	82 86	54 67	wurde		
21	17 11	18 14	7 8	in diesem		
1	— —	— —	— —	Versuch		
—	— —	— —	— —	nicht		
78%	84,5%	84%	89%	benutzt!		83,9%
22%	15,5%	16%	11%			16,1%

mit Stamm 638, 28 Tage alt.[3])

art.	art.	art.	art.	ven.		
89%	94%	93%	91%	94%		92,2%
11%	6%	7%	9%	6%		7,8%

[3]) nicht gewertet wegen zu großer Bazilleneinsaat.

Tabelle

Wachstumsergebnisse von virul. Tbc. Bazillen im Blut von B. C. G.-Meer-

Meerschweinchen Nr.		242	243	992	993	994	995	998
Zahl der Bazillen pro Kolonie	Einsaat-Kontrolle	**A. Versuch vom 15. XI. 1929**						
		ven.	art.	art.	ven.	art.	art.	art.
1— 4	92	90 88	86 83	65 54	47 63	79 61	84 86	91 93
5—10	6	9 8	9 11	8 5	3 7	7 6	7 11	8 6
11—20	2	1 3	4 4	— 1	— —	1 1	3 1	1 —
über 20	—	— 1	1 2	— —	— —	— —	— —	— 1
bis 4	92%	89%	84,5%	89,5%	91,5%	91%	87,5%	92%
über 4	8%	11%	15,5%	10,5%	8,5%	9%	12,5%	8%
		B. Versuch vom 28. 4. 1930						
		art.	ven.	art.	art.	ven.	ven	ven.
1— 4	91	43 43	86 89	77 79	84 83	79 77	69 71	73 69
5—10	9	24 28	14 10	17 19	14 14	20 21	22 23	20 23
11—20	—	27 24	— 1	6 2	2 3	1 1	7 6	7 8
über 20	—	6 5	— —	— —	— —	— 1	2 —	— —
bis 4	91%	43%	87,5%	78%	83,5%	78%	70%	71%
über 4	9%	57%	12,5%	22%	16,5%	22%	30%	29%
		C_1. Versuch vom 8. 10. 1931.						
		ven.	art.	art.	art.	art.	art.	art.
1— 4	49	39 48	47 48	52 48	61 56	42 51	65 54	57 64
5—10	1	3 2	2 1	3 2	3 1	2 2	3 2	2 3
11—20	—	— —	— 1	— 1	— —	— 1	1 —	— —
über 20	—	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
bis 4	98%	94,5%	96%	94,5%	96,5%	95%	95%	96%
über 4	2%	5,5%	4%	5,5%	3,5%	5%	5%	4%
		C_2. Wiederholung von C_1						
		art.	art.	art.	ven.	art.	art.	ven.
bis 4	98,5%	85%	87,5%	Fäden zer-rissen	85,5%	84%	88%	85%
über 4	1,5%	15%	12,5%		14,5%	16%	12%	15%

[1]) † = interkurrent gestorben.

II a.

schweinchen: A 3 Wochen, B $^1/_2$ Jahr, $C_{1,2}$ 2 Jahre nach der Impfung!

999	244	245	246	247	250	997	249	996	Durchschnitt
Tuberkelbazillen-Stamm Typ humanus 638 vom 19. X. 1929									
ven.	ven.	art.	art.	art.	ven.	ven.	art.	ven.	
88 87	79 82	Fäden zerrissen!	85 81	39 46	89 91	88 89	65 77	90 89	
8 5	8 9		12 14	4 6	8 9	10 9	7 8	8 3	
4 5	4 3				3 —	2 2	2 1	2 4	
— 3	1 2		— —	— —	— —	— —	2 —	— 1	
87,5%	85.5%		83%	89,5%	90%	88,5%	87,5%	91%	88,5%
12,5%	14,5%		17%	10,5%	10%	11,5%	12,5%	9%	11,5%
Tbc. Baz. Stamm 638 vom 5. IV. 1930									
art.	art.	ven.	ven.	ven.	ven.	art.			
29 33	76 79	78 78	84 87	59 60	72 67	32 36	†[1])	†	
2 5	21 20	17 18	15 13	27 31	19 26	6 5			
1 1	3 1	5 4	1 —	10 7	8 7	2 1			
— —	— —	— —	— —	4 2	1 —	— —			
87,5%	77,5%	78%	85,5%	59,5%	69,5%	83%			75%
12,5%	22,5%	22%	14,5%	40,5%	30,5%	17%			25%
Tbc. Baz. Stamm 638 vom 14. IX. 1931.									
ven.									
49 51	†	†	†	†	†	†	†	†	
4 3									
— —									
— —									
93,5%									95,1%
6,5%									4,9%
Tbc. Baz. Stamm 638 vom 21. IX. 1931.									
art.									
86,5%									86%
13,5%									14%

Tabelle

Wachstum der Tuberkelbazillen im Blut der

Meerschweinchen Nr.		226	227	229	233	236	238	235
Anzahl der Bazillen pro Kolonie	Einsaat-Kontrolle	Kontrollmeerschweinchen						
		art.	art.	art.	art.	ven.	ven.	ven.
1— 4	92	61 76	71 68	60 65	70 64	71 62	57 64	69 63
5—10	6	26 22	21 26	29 25	22 24	22 27	27 23	27 29
11—20	2	3 2	6 4	8 8	7 9	6 8	13 11	4 6
über 20	—	— —	2 2	3 2	1 3	1 3	3 2	— 2
bis 4	92%	72%	69,5%	62,5%	67%	66,5%	60,5%	66%
über 4	8%	28%	30,5%	37,5%	33%	33,5%	39,5%	34%

		Kontrollmeerschweinchen						
		art.	art.	art.	ven.	art.	ven.	ven.
1— 4	91	59 63	41 34	78 76	71 59	21 18	79 84	69 70
5—10	9	33 33	42 48	19 22	24 31	22 20	19 12	24 25
11—20	—	6 4	14 14	3 2	5 6	24 29	1 3	6 3
über 20	—	2 —	3 4	— —	— 4	33 33	1 1	1 2
bis 4	91%	61%	37,5%	77%	65%	19,5%	81,5%	69,5%
über 4	9%	39%	62,5%	23%	35%	80,5%	18,5%	30,5%

		Kontrollmeerschweinchen						
		art.	art.	art.	art.	art.	ven.	art.
1— 4	49	39 43[1])	47 43[2])	38 51	51 57	Fäden zerrissen!	58 51	46 43
5—10	1	4 2	5 7	4 6	8 6		6 5	6 5
11—20	—	1 2	— 1	— —	— —		— —	— —
über 20	—	— —	— —	— —	— —		— —	— —
bis 4	98%	90%	87,5%	90%	88,5%		91%	89%
über 4	2%	10%	12,5%	10%	11,5%		9%	11%

		Kontrollmeerschweinchen						
		art.	art.	art.	art.	art.	art.	
bis 4	98,5%	78%	74,5%	75%	85%	75%	78%	†
über 4	1,5%	22%	25,5%	25%	15%	25%	22%	

[1]) Ersatzkontrolltiere Me 766, ♂, 585 g
[2]) Ersatzkontrolltiere Me 750, ♀, 700 g

II b.

Kontrolltiere zu den Versuchen in Tabelle II a.

241	234	230	231	232	237	239	228	240	Durchschnitt
zum Versuch A.									
art.	ven.	ven.	ven.	art.	art.	art.	art	ven.	
61 68	68 72	72 66	67 73	74 75	75 69	63 66	69 73	67 61	
28 29	24 20	20 28	26 20	19 18	21 24	31 26	24 21	26 33	
8 3	6 5	7 6	6 5	5 4	3 5	5 6	5 4	5 4	
3 —	2 3	1 —	1 2	2 3	1 2	1 2	2 2	2 2	
64,5%	70%	69%	70%	74,5%	72%	64,5%	71%	64%	67,7%
35,5%	30%	31%	30%	25,5%	28%	35,5%	29%	36%	32,3%
zum Versuch B.									
ven.	ven.	art.	art.	art	art.	ven.			
75 78	78 76	77 78	74 70	56 61	71 68	44 36	†[3])	†	
22 18	21 24	23 22	26 29	32 31	18 18	14 12			
2 4	1 —	— —	— 1	8 6	1 2	— —			
1 —	— —	— —	— —	4 2	— —	— —			
76,5%	70%	69%	72%	58,5%	78%	75,5%			66%
23,5%	30%	31%	28%	41,5%	22%	24,5%			34%
zum Versuch C_1.									
	art.								
wurde in diesem Versuch nicht	52 56 6 7 — — — —	†	†	†	†	†	†	†	
benutzt!	89,5% 10,5%								89,4% 10,6%
zum Versuch C_2.									
	art.								
75,5%	nicht	†	†	†	†	†	†	†	77,3%
24,5%	benutzt!								22,7%

[3]) † = interkurrent gestorben

In einer zweiten Versuchsreihe sollte geprüft werden, ob die im Blut von Meerschweinchen nach Vorbehandlung mit B.C.G. vorhandenen wachstumshemmenden Kräfte für Tuberkelbazillen konstant bleiben oder ob sie bei einer Wiederholung nach einem halben bzw. 2 Jahren eine Änderung erfahren. Zur Klärung dieser Frage wurden am 25. Oktober 1929 16 Meerschweinchen mit je 70 mg B.C.G. intraperitoneal gespritzt. Gleichzeitig wurden 16 unbehandelte Meerschweinchen im gleichen Stall in gleiche Käfige verteilt und unter denselben Bedingungen gehalten. Das Blut dieser 32 Tiere wurde nach 3 Wochen, am 16. November 1929, auf seine wachstumshemmenden Eigenschaften, wie vorher beschrieben, untersucht. Der Versuch wurde am 28. April 1930 mit je 14 Tieren (zwei B.C.G.-Tiere und zwei Kontrollen waren interkurrent eingegangen) wiederholt. Die nach 2 Jahren überlebenden 8 B.C.G.-Tiere und 8 Kontrollen (6 ehemalige, dazu 2 neue) wurden in einem Doppelversuch (am 8. und 12. Oktober 1931) zum letztenmal geprüft; die B.C.G.-Tiere wurden dann getötet und seziert. Es sei hier vorweg genommen, daß noch in allen Tieren mehr oder weniger ausgeprägte, tuberkulöse Herde gefunden wurden. Die Versuchsergbnisse finden sich in den Tabellen II a und II b. Die beiden ersten Versuche wurden von Fräulein Dr. G. Meißner durchgeführt; die Präparate, für deren Überlassung ich zu Dank verpflichtet bin, wurden von mir ausgezählt.

Auch in diesen 3 Versuchsreihen ist zunächst die Tatsache bemerkenswert, daß im Durchschnitt sich im Blut der B.C.G.-Meerschweinchen eine stärkere Wachstumshemmung der Tuberkelbazillen zeigt, als im Blute der normalen Tiere. Am stärksten (mit 88,5% kleinen Kolonien im Blute der vorbehandelten gegenüber 67,7% der nichtgeimpften Tiere) prägt sich die Wachstumshemmung 3 Wochen nach der Impfung aus. Sie erfährt eine Abschwächung (75% : 66%) nach einem halben Jahr und ist am schwächsten, aber immer noch deutlich erkennbar nach 2 Jahren (95,1% : 89,4% bzw. 86% : 77,3%).

In den beiden letzten Versuchen ist ebenso wie bei den Versuchen der Tabelle I das Wachstum in den Kontrollbluten etwas schlechter als in den beiden ersten Versuchen der letzten Serie (Tabelle II). Wahrscheinlich hat der Stamm 638 bei der langen Fortzüchtung auf Glyzerin-Kartoffeln etwas von seiner Wachstumsintensität eingebüßt. Um aber vergleichbare Resultate zu bekommen, mußte er trotz seines schlechteren Wachstums benutzt werden.

Im Blut vereinzelter Tiere (z. B. Me. 242, Tab. II a, Vers.B., Me. 236, Tab. II b, Vers.B.) fällt gelegentlich ein exzessives

Wachstum der Tuberkelbazillen auf, in anderen Versuchen zeigen diese Tiere dagegen ein durchaus in den Rahmen der Serie passendes Bild. Wenn man nicht ein zeitlich begrenztes, starkes Absinken der auch im Normalblut vorhandenen bakteriziden Kräfte annehmen will, könnte als Erklärung für diese ganz vereinzelten Fälle an eine bakterielle Verunreinigung der Blutfäden gedacht werden, die vielleicht bei der Ziehl-Neelsen-Färbung nicht zur Darstellung gekommen ist. In anderen Fäden finden sich im Vergleich zur Einsaatkontrolle nur sehr wenig Bazillen. In den Tabellen wird dies bei einigen Präparaten dadurch vorgetäuscht, daß nur verstümmelte Fäden zur mikroskopischen Durchsicht gelangten (z. B. bei den Me. 235, 229, Tab. I Vers. A 1); aus der vollständigen Vernichtung zweier oder gar aller drei Fäden erklärt sich auch die Auszählung nur eines bzw. gar keines Fadens (Me. 750, Tab. I Vers. A 1; Me. 236, Tab. II b, Vers. C. 1). Andererseits sind aber auch in vollständig erhaltenen Fäden in einigen Fällen bedeutend weniger Bazillen festgestellt worden als im Einsaatkontrollfaden. Da sich dieses Verschwinden der Bakterien immer nur in einem Versuch zeigt, während es bei demselben Tier in einem anderen Versuch nicht auftritt, kann man bakteriolytische Substanzen als Erklärung annehmen, die entweder beim Versuch durch Verunreinigung hinzukamen oder aber im Blut des Tieres zur Versuchszeit vorhanden waren.

Jedenfalls konnten über die Dauer von 2 Jahren nach der Impfung mit B.C.G. im Blut von Meerschweinchen wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber Tuberkelbazillen nachgewiesen werden.

Der Ansicht von Bonanno, daß es sich bei unseren Versuchen nicht um ein Wachstum der Bazillen zu Kolonien, sondern nur um eine Agglutination von Bazillen handele, können wir nicht beipflichten. Es erscheint schon von vornherein mehr als unwahrscheinlich, daß in unbehandelten Kontrollen eine stärkere Agglutination auftreten sollte, als im Blut der behandelten Tiere. Zum Beweis unserer Ansicht möchten wir darauf hinweisen, daß die Bazillen in den Kontrollfäden, die nach 24 Stunden untersucht wurden, noch einzeln lagen, daß die Bazillen nach 4—5 Tagen erst zu ganz kleinen Kolonien ausgewachsen sind (nach früheren Versuchen von Meißner) und erst nach 10 Tagen die optimale Größe erreichten. Ferner möchten wir das Ergebnis des Versuchs C. 1, Tab. II b heranziehen. Bei diesem Versuch mit sehr geringer Einsaat von Tuberkelbazillen wurden immer die ganzen Fäden durchgezählt. Im unbebrüteten Kontroll-

faden lagen die Bazillen in der weitaus größten Mehrzahl (ca. 80%) einzeln, nur einige in Häufchen zu 2, 3 und 4 Bazillen (ca. 18%) zusammen; im ganzen Faden konnte nur eine Kolonie zu 5 Bazillen festgestellt werden. In den Versuchspräparaten sahen wir stets eine wesentlich höhere Zahl von Kolonien mit 3—4, 5—10, ja sogar über 10 Bazillen, ohne daß deshalb die absolute Anzahl der Kolonien kleiner geworden wäre.

III. Zusammenfassung.

Das Blut von insgesamt 30 Meerschweinchen, die mit B.C.G. vorbehandelt waren, und von ebensoviel Kontrolltieren wurde quantitativ in mehreren Versuchsreihen auf seine wachstumshemmenden Eigenschaften gegenüber virulenten Tuberkelbazillen vom Typus humanus untersucht.

Ähnlich wie bei tuberkulösen Meerschweinchen konnte auch im Blut der B.C.G.-Tiere eine stärkere Wachstumshemmung festgestellt werden als im Blut von Normaltieren.

Die Frage der Konstanz dieser wachstumshemmenden Kräfte wurde in drei zeitlich weit auseinanderliegenden Versuchsreihen geprüft:

3 Wochen nach der Impfung mit B.C.G. war die Wachstumshemmung am stärksten.

Ein halbes Jahr nach der Impfung ließ sie etwas nach.

2 Jahre nach der Impfung war sie noch weiter zurückgegangen, aber immer noch deutlich zu erkennen.

Bei der Sektion fanden sich noch in allen B.C.G.-Tieren tuberkulöse Veränderungen.

Ich danke Fräulein Privatdozentin Dr. Gertrud Meißner für die gütige Überlassung des Themas und Materials, sowie für die liebenswürdigen Ratschläge, die ich bei der Durchführung der Versuche und bei der Anfertigung der Arbeit von ihr erhielt.

Literatur-Verzeichnis.

Arima, R., Aoyama, K. und Ohnawa, J.: Ztschr. f. Tb. Bd. 41 S. 165 (1924); Bd. 42 S. 275 (1925); Bd. 43 S. 112, 211, 307 (1925). Bd. 47 S. 97, 197 (1927).

Ariztia, A., Orellana, J. und Sotero del Rio: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 70 S. 370 (1931).

Ascoli, A.: Wi. Kli. Wo. II S. 1351 (1928).

— Ann. Past. 1927 zit. n. K.K.U.[1]) V. 2 S. 911.

— Ann. Past. 1931 Bd. 47 S. 29—31. Ref. Z. f. Bakt. I. Bd. 104 S 228.

— „La vaccination antituberculeuse avec les bacilles vivants. . . .“ Istituto Edit. Cisalp. (Milano) 1928. Ref. Z. f. B. I. Bd. 95 S. 79.

Assis: Ann. Past. 43 S. 996.

Babes, V. und Proca, G.: Z. f. Hyg. Bd. 23 S. 331 (1896).

v. Baumgarten, P. und Dibbelt, W.: Arb. a. d. Path. Inst. Tübingen 1908 Bd. 6.

Bessau, G.: Berl. Kli. Wo. 1916 Nr. 29 S. 801.

— Kli. Wo. 1925 Nr. 8 S. 337.

Bonanno, A. M.: Giorn. Batter. VI (1931). Ref. Z. f. B. I. Bd. 103 S. 507.

v. Behring: Dt. med. Wo. 1904 S. 193.

Calmette, A.: Masson Edit. Paris 1927 zit. n. K.K.U. V, 2 S. 796 und 895.

— Wi. Kli. Wo. 1928 Nr. 1 S. 14.

Calmette, A., Guérin, Négre et Boquet: Ann. Past. 1926 T. 40 S. 89; 1928 T. 42 S. 201.

Chiari, H., Nobel, E. und Solé, A.: Z. f. Tb. 1928 Bd. 50 S. 24.

Courmont, P. et Dor, A.: A. de méd. expér. 1891 T. 3.

Courmont, P. und Gardère, H.: Presse méd. 1930. Ref. Z. f. B. I. Bd. 101 S. 273.

Daremberg: Académ. de Méd. 1889.

Dieudonné: Mü. Med. Wo. 1903 Nr. 51 S. 2282.

Disse: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 895.

Dold, H.: Kli. Wo. 1925 S. 1763.

Ehrlich: Zit. n. K.K.U.[1]) V, 2 S. 895.

[1]) K.K.U. = Kolle-Kraus-Uhlenhuth, Handbuch der pathogen. Mikroorganismen, 1928.

Fränkel, E. und Platz, C.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 70 S. 459 (1931).
Frenkel, H. S.: Verstagen en medellingen betr. de volksgezondheit. Aug. 1927 Nr. 8 S. 1229.
Friedmann: Dt. Med. Woch. 1904 Nr. 46 S. 1673. 1903 Nr. 50 S. 953.
Gerlach, F.: Weichardt, Ergebnisse Bd. 11 S. 775 (1930). — Z. f. Bakt. II. Beiheft Bd. 104 S. 61 (1927).
Gerlach, F. und Kraus, R.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 59 S. 306 (1928).
Guérin-Richart-Boissière: Ann. Past. 1927 Nr. 3.
Hamburger, F.: Allg. Path. und Diagnostik d. Kinder-Tb. F. Deutike-Wien 1910.
Haring, C. M., Traum, J., Hayes, F. M., Henry, B. S.: J. am vet. Assoc. 76 S. 391 (1930). Ref. Z. f. Bakt. I. Bd. 102 S. 325.
Hedvall, E.: Z. f. Tb. Bd. 60 S. 97 (1931).
Heimbeck (Oslo): Z. f. Tb. Bd. 52 S. 378 (1931). Presse méd. II S. 1391 (1929).
Heymans, A.: A. int. de pharm. et de ther. 1907 T. 20. 1908 T. 18.
Hormaeche: Zit. n. R. Kraus, Dt. med. Wo. 1930 Nr. 44 S. 1855.
Hutyra, F. und Schütz, F.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 62 S. 74 (1929).
Imamura, Takahashi, Sataku: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 911.
Jensen, K. A.: Act. path. scand. Suppl. III (1930). Ref. Z. f. Bakt. I. Bd. 99 S. 35.
King, M. J. and Park, W. H.: Am J. publ. Health (1929). Ref. Z. f. Bakt. I. Bd 95 S. 565.
Kirchner, O.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 74 Heft 1—2 (1932).
Klemperer: Z. f. Kli. Med. Bd. 48 und Bd. 56. Beitr. z. Kli. d. Tb. (1914) Bd. 30 S. 433.
Koch, R., Schütz, W., Neufeld, F., Mießner, H., Z. f. Hyg. Bd. 51 S. 300 (1905).
Korschun, S. W.: Z. f. Krankh.Forschg. 1927 Bd. 5.
Korschun, S. W. und Dwijkoff, P. P., Z. f. Imm.Forschg. Bd. 61 S. 59 (1929).
Kraus, R.: K.K.U. V, 2 S. 887 ff.; Dt. Med. Wo. 1930 Nr. 44 S. 1855; Z. f. Bakt. II. Beih. Bd. 104 S. 65 (1927); Z. f. Imm.Forschg. Bd. 61 S. 454 (1929), Bd. 62 S. 339 (1929).
Kritschewsky, N. L.: Ber. d. mikrobiol. Staatsinst. Rostow a. D. Nr. 13 (1930). Ref. Z. f. Bakt. I. Bd. 104 S. 230.

Küster, E. und Elkes, G.: Arb. Inst. exper. Ther. Frankfurt a. M. Bd. 23 S. 38 (1930).
Lange, B.: Z. f. ärztl. Fortb. 1930 S. 363.
Lange, B. und Lydtin, K.: Z. f. Hyg. Bd. 108 S. 808 (1928).
Lange, B. und Wethmar: Z. f. Hyg. Bd. 110 Heft 3.
Langer, H.: Dt. Med. Wo. 1926 S. 396; Kli. Wo. 1924 Nr. 43 S. 1944.
Löwenstein, E.: K.K.U. V, 2 S. 777 ff.
Mafucci und di Vestea: Z. f. Bakt. 1896 Bd. 19 S. 208; 1899 Bd. 25 S. 809.
Meißner, G.: Z. f. Bakt. II Bd. 106 S. 210 (1928).
Möller, A.: Z. f. Tb. 1904 Bd. 5 S. 5.
Moro, E.: Dt. Med. Wo. Nr. 42 S. 1759 (1928); Mü. Med. Wo. Nr. 5 S. 172 (1925).
Moussu und Goupil: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 799.
Neufeld, F.: Dt. Med. Wo. 1930 S. 1599.
Orskow, J. und Jensen, K. A.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 70 S. 155 (1931).
Paterson: Amer. Rev. of. Tb. 1917 Bd. 1, zit. n. K.K.U. V, 2 S. 801.
Pepen: Boll. dell'inst. siero ther. milanese Bd. 6 S. 161 (1927). Ref. Rupilius Beih. 1 Arch. f. Kinderheilk. S. 13 (1931).
Petroff, S. A. and Branch, A.: Amer. J. Publ. Health 1928 S. 843. Ref. Z. f. Bakt. I Bd. 94 S. 121.
Petroff, S. A. and Steenken jr., W. M.: J. of Immun. Bd. 19 (1930). Ref. Z. f. Bakt. I Bd. 101 S. 567.
Seligmann, E. und v. Gutfeld, F.: Dt. Med. Wo. 1925 Nr. 26 S. 1064.
Prausnitz, C.: Med. Welt. 1929 S. 480.
Rabinowitsch, L.: Virchow Arch. Bd. 190 Beih. 247.
Remlinger, P. et Bailly, J.: C. r. Soc. biol. 99 (1928). Ref. Z. f. Bakt. I Bd. 94 S. 126.
Römer: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 895.
Rupilius, C.: Arch. f. Kinderheilk. Beih. I (1931); Mü. Med. Wo. 1931 S. 263.
Selter, H.: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 1020.
Selter, H. und Blumenberg, W.: Kl. Wo. 1927 Nr. 24 S. 1134.
Schloßmann, A.: Dt. Med. Wo. II S. 1871 (1928).
Silberschmidt, W.: Schweiz. Med. Wo. 1930 S. 1106.
Sternberg: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 795.
Suarez: Wi. Kli. Wo. 1927 Nr. 12 S. 381.

Tiedemann, H. J. und Schnieder, E. A.: Beitr. Klin. d. Tb. Bd. 78 S. 1 (1931).
Togunowa, A. J., Archangelsky, W. N., Baidakowa, S. L.: Z. f. Tb. Bd. 59 S. 425 (1931).
Togunowa, A. J. und Larionowa, M. M.: Z. f. Tb. Bd. 57 S. 312 ff. (1930).
Tzechnovitzer, M.: Ann. Past. 1927 Nr. 3.
Uhlenhuth, P.: Beitr. z. Kli. Tb. Bd. 67 S. 241 (1927); Z. f. Bakt. Beih. Bd. 104 S. 77 (1927); Dt. Med. Wo. 1927 Nr. 43 S. 1807.
Uhlenhuth, P., Müller, K., Hillenbrandt, K.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 65 S. 1 (1930).
Uhlenhuth, P. und Seiffert, W.: Z. f. Imm.Forschg. Bd. 69 S. 187 (1930).
Watson, Mc. Intosh und Konst: J. Amer. vet. med. Assoc. Vol. 71 S. 732 (1927).
Weill-Hallé: Arch. med. enfants 31 S. 517 (1928); Ann. Past. 1927 T. 41 S. 254.
Wilbert: Zit. n. K.K.U. V, 2 S. 896.
Wischnewsky, P.: Dopr. Tuberkulösa 1930 Nr. 3 Ref. Z. f. Bakt. I Bd. 98 S. 23 und Bd. 102 S. 325.

Lebenslauf.

Ich bin geboren am 19. Januar 1899 in Köln a. Rh. als Sohn des Oberpostsekretärs D. Beckers und seiner Ehefrau Helene, geb. Thyssen. Nach dreijährigem Besuch der Volksschule und achtjährigem Besuch der Reformrealgymnasien in Ohligs-Wald und Köln verließ ich Pfingsten 1916 die Oberprima und trat als Praktikant in die Apotheke meines Onkels Edmund Thyssen in Wanzenau, Unterelsaß, ein. Im Juni 1917 bestand ich in Köln an meiner alten Schule das Abitur und trat nach weiteren 3 Monaten Praktikantenzeit im September 1917 in das Berg-Feldartillerie-Regiment 59 ein. Im Februar 1918 rückte ich an die Westfront aus, wurde zum Gefreiten ernannt und blieb bis zur Beendigung des Feldzuges beim Reserve-Feldartillerie-Regiment 66. Im September 1919 bestand ich mein pharmazeutisches Vorexamen in Köln mit „Sehr gut", nach fünfsemestrigem Studium in Bonn und Gießen das pharmazeutische Staatsexamen mit „Gut". 1925 erhielt ich meine Approbation als Apotheker. Im Sommersemester 1929 begann ich in Breslau das Studium der Zahnheilkunde, das ich nach 6 Semestern im Mai 1932 mit dem „Gut" bestandenen Staatsexamen beendete. Ich erhielt darauf die Approbation als Zahnarzt. Ich bin preußischer Staatsangehöriger.

Wilhelm Beckers.